

BENZOFLUORENE COMPOUND, INTERMEDIATE, COMPOSITION, AND METHOD

Publication number: JP10130211 (A)

Publication date: 1998-05-19

Inventor(s): CROWELL THOMAS ALAN; JONES CHARLES DAVID;
BRYANT HENRY UHLMAN +

Applicant(s): LILLY CO ELI +

Classification:

- international: C07D295/08; A61K31/075; A61K31/135; A61K31/40;
A61K31/445; A61K31/535; A61K31/5375; A61K31/55;
A61P3/02; A61P3/06; A61P19/10; A61P43/00; C07C39/12;
C07C43/13; C07C69/18; C07C69/28; C07C217/18;
C07C309/65; C07D207/06; C07D295/092; C07F7/18;
A61K31/075; A61K31/135; A61K31/40; A61K31/445;
A61K31/535; A61K31/5375; A61K31/55; A61P3/00;
A61P19/00; A61P43/00; C07C39/00; C07C43/00; C07C69/00;
C07C217/00; C07C309/00; C07D207/00; C07D295/00;
C07F7/00; (IPC1-7): C07C39/12; C07D207/06; C07C217/18;
A61K31/075; A61K31/135; A61K31/40; A61K31/445;
A61K31/535; A61K31/55; C07C43/13; C07C69/18; C07C69/28;
C07C309/65; C07D295/08; C07F7/18

- European: C07D295/088

Application number: JP19970261612 19970926

Priority number(s): US19960026750P 19960926

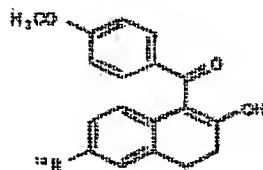
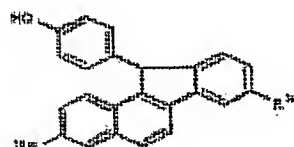
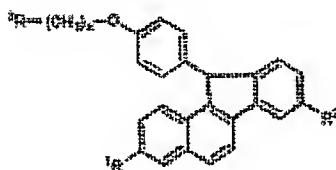
Also published as:

EP0832881 (A2)
EP0832881 (A3)
EP0832881 (B1)
PT832881 (E)
ES2175277 (T3)

more >>

Abstract of JP 10130211 (A)

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain the subject new compound useful for inhibiting cardiovascular system-related syndromes especially including osteoporosis and hyperlipemia, and for inhibiting estrogen-dependent cancers. **SOLUTION:** A benzofluorene compound of formula I [R<1>, R<2> are each H, OH, O(1-4C alkyl), etc.; R<3> is 1-piperidinyl, 1-pyrrolidinyl, etc.; (n) is 2 or 3]. For example, 4-(3,8-dimethoxy-11H-benzo[a]fluoren-11-yl)phenol. A compound of formula II [R<1a> is H, OR<5> (R<5> is a hydroxy-protecting group); R<2a> is OR<6> (R<6> is a hydroxy-protecting group)] is useful as an intermediate for the compound of formula I. The compound of formula II is obtained from a 1-acylated-2-tetralone of formula III as a starting substance through an enol phosphate derivative and subsequently through a process for cyclizing and dehydrating a dihydronaphthalene derivative. The compound of formula I as an active ingredient gives medicines for antipostmenopausal syndromes.



Data supplied from the *espacenet* database — Worldwide

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平10-130211

(43)公開日 平成10年(1998) 5月19日

(51)Int.Cl. ⁶	識別記号	F I
C 0 7 C 217/18		C 0 7 C 217/18
A 6 1 K 31/075		A 6 1 K 31/075
31/135	ADN	31/135 ADN
31/40	ADT	31/40 ADT
31/445	ABJ	31/445 ABJ

審査請求 未請求 請求項の数3 OL (全 18 頁) 最終頁に続く

(21)出願番号	特願平9-261612	(71)出願人	590005922 イーライ・リリー・アンド・カンパニー ELI LILLY AND COMPAN NY アメリカ合衆国46285インディアナ州イン ディアナポリス市、リリー・コーポレイ ト・センター (番地の表示なし)
(22)出願日	平成9年(1997) 9月26日	(72)発明者	トーマス・アラン・クロウエル アメリカ合衆国46220インディアナ州イン ディアナポリス、ブロードウェイ・ストリ ート5871番
(31)優先権主張番号	60/026750	(74)代理人	弁理士 青山 稔 (外1名)
(32)優先日	1996年9月26日		
(33)優先権主張国	米国 (US)		

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 ベンゾフルオレン化合物、中間体、組成物、および方法

(57)【要約】

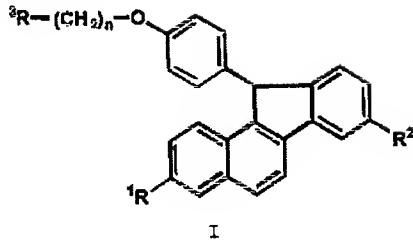
【課題】 新規ベンゾフルオレン化合物、中間体、組成物、およびその使用方法を提供する。

【解決手段】 骨損失または骨再吸収、特に骨粗鬆症、および高脂血症を含む心血管関連性の病理学的状態をといた閉経後症候群を予防、治療するのに有用な新規ベンゾチオフェン化合物を提供する。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 式I:

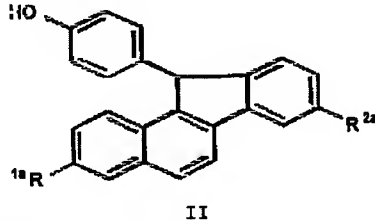
【化1】



【式中、R¹は、-H、-OH、-O(C₁-C₄アルキル)、-OCO(C₁-C₆アルキル)、-O(CO)O(C₁-C₆アルキル)、-OCOAr、-O(CO)O-Ar(ここで、Arはフェニルまたは所望により置換フェニルである)、または-O-SO₂(C₂-C₆アルキル)であり; R²は、-H、-OH、-O(C₁-C₄アルキル)、-OCO(C₁-C₆アルキル)、-O(CO)O(C₁-C₆アルキル)、-OCOAr、-O(CO)OAr(ここで、Arはフェニルまたは所望により置換フェニルである)、または-O-SO₂(C₂-C₆アルキル)であり; R³は1-ヒペリジニル、1-ピロリジニル、メチル-1-ピロリジニル、ジメチル-1-ピロリジニル、4-モルホリノ、ジメチルアミノ、ジエチルアミノ、ジイソプロピルアミノ、または1-ヘキサメチレンイミノであり、nは2または3である]で示される化合物、またはその医薬的に許容される塩もしくは溶媒和物。

【請求項2】 式II:

【化2】



【式中、R¹は-Hまたは-OR⁵(ここでR⁵はヒドロキシ保護基である)であり、R²は-OR⁶(ここで、R⁶はヒドロキシ保護基である)である]で示される化合物、またはその医薬的に許容される塩もしくは溶媒和物。

【請求項3】 請求項1に記載の式Iの化合物を活性成分とし、1またはそれ以上の医薬的に許容される賦形剤、担体、または希釈剤と共に含有する抗閉経後症候群医薬製剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】骨粗鬆症は、単位体積当たりの骨質量の正味の損失を特徴とする様々な病因から生じる一群の疾患をいう。この骨質量の損失とその結果生じる骨折によ

る、身体を適切に支えるための骨格の機能不全である。最も一般的なタイプの骨粗鬆症の1つは、閉経に関連するものである。大部分の女性では、月経停止後3年から6年以内に骨小柱のコンパートメントの骨質量が約20%から約60%損失する。この急速な損失は、一般に骨の吸収及び形成の増加に関連するが、骨の吸収サイクルがより顕著であるため、骨質量の正味の損失が生じる。骨粗鬆症は閉経後の女性にとっては一般的で深刻な疾患である。

【0002】本疾患に悩まされている女性は、米国だけでも2500万人に上ると見積もられている。骨粗鬆症は当人に有害であるばかりでなく、慢性であることおよびその病気の後遺症により広範囲で長期間の介護(入院及び在宅医療での看護)を必要とすることから大きな経済的損失をもたらす。このことは、より高齢の患者に特に当てはまる。

【0003】さらに、骨粗鬆症は生命を脅かす病状であるとは一般に考えられていないが、高齢の女性の死亡率の20%~30%が股関節の骨折に関連している。この高い死亡率のパーセントは閉経後骨粗鬆症を直接関連していると考えられる。

【0004】骨において、閉経後の骨粗鬆症の影響を最も受け易い組織は小柱である。この組織はしばしば、海綿状または網状骨と呼ばれ、特に骨の末端近く(関節の近く)、及び脊柱の椎骨に集中している。小柱組織は、他の小柱組織と互いに相互連結する小さな骨状構造、並びに骨の外側表面及び中心幹を形成するより堅く密な皮質性の組織を特徴とする。小柱のこの相互に連結したネットワークは、外部皮質性構造を側方から支持し、構造全体にわたる生体力学的強度にとって決定的なものである。閉経後の骨粗鬆症においては、骨の不全及び骨折をもたらすのは小柱の正味の吸収及び損失である。閉経後の女性における小柱の損失からみれば、最も一般的な骨折が、小柱の支持に大いに依存する骨、例えば椎骨、大腿及び前腕のような重量を支える骨の頸に関連した骨折であるということは意外なことではない。確かに、股関節骨折、コリーズ(collies)骨折、及び椎骨の粉碎骨折は、閉経後骨粗鬆症の際立った特質である。

【0005】閉経後骨粗鬆症の治療に最も一般に用いられる方法は、エストロゲン置換療法である。治療は通常はうまく行くが、患者のこの治療に対する同意は低いものである。主として、エストロゲン療法はしばしば好ましくない副作用を生ずるからである。更なる治療の方法としては、例えば Fosamax(登録商標)(Merck & Co.社)のようなビスホスホネート化合物の投与があろう。

【0006】閉経前の時期にわたって、大部分の女性は、同年齢の男性よりも心臓血管の病気の発生率が低い。しかし、閉経後は女性の心臓血管の病気の発生率は男性にみられる割合に匹敵してゆっくりと増加する。この保護の損失は、エストロゲンの損失、特に、血清脂質

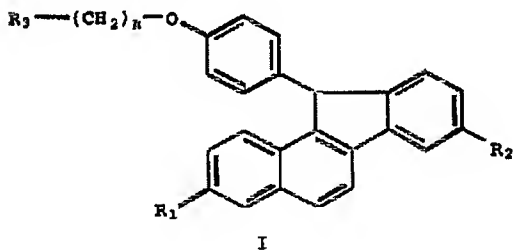
レベルを調節するエストロゲンの能力の損失に関連している。血清脂質を調節するエストロゲンの能力の性質はよく理解されていないが、現在までのところ、エストロゲンが過剰のコレステロールを除去する肝臓の低密度脂質(LDL)レセプターを上方調節し得ることを示す証拠はある。さらに、エストロゲンは、コレステロールの生合成にある影響を及ぼし、心臓血管の健康にとって別の有益な影響を及ぼしているようである。

【0007】エストロゲン置換療法を受けている閉経後の女性において、血清脂質の濃度レベルが閉経前にみられた濃度に戻ることが文献に報告されている。したがって、エストロゲンは、この状態のための合理的な治療であるように思われよう。しかし、エストロゲン置換療法の副作用は、多くの女性にとっては受け入れられないものであり、したがって、この療法の使用が制限される。この状態のための理想的な治療は、エストロゲンと同様に血清脂質レベルを調節するが、副作用及びエストロゲン療法に関連した危険性が全くない薬剤による治療であろう。

【0008】本発明はベンゾフルオレン化合物およびその医薬製剤、ならびに少なくともそのような化合物の、本明細書中に示した病状の阻害、治療、または予防における使用方法を提供するものである。

【0009】本発明は式I:

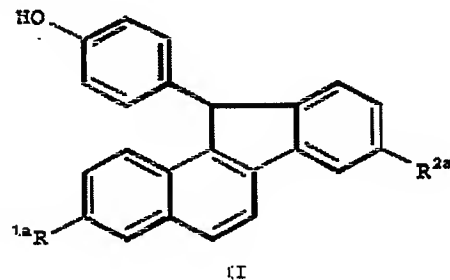
【化3】



〔式中、 R^1 は、 $-H$ 、 $-OH$ 、 $-O(C_1-C_4 \text{ アルキル})$ 、 $-OCO(C_1-C_6 \text{ アルキル})$ 、 $-O(CO)O(C_1-C_6 \text{ アルキル})$ 、 $-OCOAr$ 、 $-O(CO)OAr$ (ここで、 Ar は、フェニルまたは所望により置換フェニルである)、または $-OSO_2(C_2-C_6 \text{ アルキル})$ であり； R^2 は、 $-OH$ 、 $-O(C_1-C_4 \text{ アルキル})$ 、 $-OCO(C_1-C_6 \text{ アルキル})$ 、 $-O(CO)O(C_1-C_6 \text{ アルキル})$ 、 $-OCOAr$ 、 $-O(CO)OAr$ (ここで、 Ar は、フェニルまたは置換フェニルである)、または $-OSO_2(C_2-C_6 \text{ アルキル})$ であり； R^3 は、1-ピペリジニル、1-ピロリジニル、メチル-1-ピロリジニル、ジメチル-1-ピロリジニル、4-モルホリノ、ジメチルアミノ、ジエチルアミノ、ジイソプロピルアミノ、または1-ヘキサメチレンイミノであり、 n は2または3である〕で示される化合物、またはその医薬的に許容される塩もしくは溶媒和物に関する。

【0010】さらに本発明は、式Iの化合物を含む医薬製剤、および少なくとも、骨損失または骨再吸収、特に骨粗鬆症、高脂血症を含む心血管関連の病的状態、およびエストロゲン依存性癌を阻止するための該化合物の使用方法を提供する。本発明は、下記式:

【化4】



〔式中、 R^{1a} は $-H$ または $-OR^5$ (ここで R^5 はヒドロキシ保護基である)であり、 R^{2a} は $-OR^6$ (ここで、 R^6 はヒドロキシ保護基である)である〕で示される、本発明の医薬的に活性な化合物を製造するのに有用な式IIの中間体化合物、またはその医薬的に許容される塩にも関する。

【0011】本明細書に記載の化合物を説明するのに使用している一般的な用語は、それらの通常の意味を有する。例えば、「 C_1-C_6 アルキル」は、炭素数1~6の直鎖または分岐鎖の脂肪族鎖を意味し、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、 n -ブチル、ペンチル、イソペンチル、ヘキシル、イソヘキシル等が含まれる。同様に用語「 $-OC_1-C_4$ アルキル」は、例えば、メトキシ、エトキシ、 n -プロピル、イソプロポキシ等のような酸素を介して結合している C_1-C_4 アルキル基を表す。これらの C_1-C_4 アルコキシ基のうちメトキシが大いに好ましい。

【0012】「置換されたフェニル」なる語は、 C_1-C_4 アルキル、 $-OC_1-C_4$ アルキル、ヒドロキシ、ニトロ、クロロ、フルオロ、またはトリ(クロロまたはフルオロ)メチルからなる群から選択される1またはそれ以上の置換基を有するフェニル基を意味する。「ヒドロキシ保護基」なる語は、一連の化学反応時にヒドロキシル基を保護し、これを除去してフェノールを生じることができる、化学論文で用いられている多くの機能性を意味する。この基にはアシル、メシレート、トシレート、ベンジル、アルキルシリルオキシ、および C_1-C_4 アルキルなどが含まれる。そのような保護基を形成および除去するための多くの反応は、例えば、Protective Groups in Organic Chemistry, Plenum Press (London and New York, 1973); Green, T.W., Protective Groups in Organic Synthesis, Wiley, (New York, 1981); およびThe Peptides, Vol. I, SchroederおよびLubke, Academic Press (London and New York, 1965)を含む多くの標準的研究中に記載されている。好ましいヒドロキシ

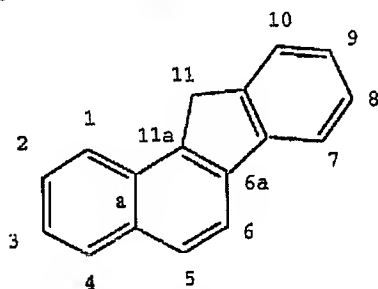
シ保護基、特にメチルおよびアルキルシリルオキシを除去する方法は、本質的に下記の実施例に記載の通りである。

【0013】所望により置換されたフェニルには、フェニルおよび C_1-C_6 アルキル、 C_1-C_4 アルコキシ、ヒドロキシ、ニトロ、クロロ、フルオロ、またはトリ(クロロまたはフルオロ)メチルで1ないし2回置換されたフェニルが含まれる。用語「溶媒和物」は、式Iの化合物のような溶質の1またはそれ以上の分子を、溶媒の1またはそれ以上の分子と共に含む凝集物を表す。「阻害」なる語は、一般に受け入れられている意味を含み、進行、重篤度の妨害(prohibiting)、予防(preventing)、抑制(restraining)、及び緩和(slowing)、停止(stopping)、もしくは逆転(reversing)、または生じた症状もしくは影響の改善を包含する。

【0014】本発明の化合物は、以下のごとくRing Index, The American Chemical Societyに従ってベンゾ

[a] フルオレンの誘導体として命名される。

【化5】



【0015】式Iの化合物には以下のものが含まれるが、これに限定されるものではない: 3, 8-ジメトキシ-11-[4-[2-(1-ピベリジニル)エトキシ]フェニル]-11H-ベンゾ[a]フルオレン; 3, 8-ジヒドロキシ-11-[4-[2-(1-ピベリジニル)エトキシ]フェニル]-11H-ベンゾ[a]フルオレン; 3-ヒドロキシ-8-メトキシ-11-[4-[2-(1-ピベリジニル)エトキシ]フェニル]-11H-ベンゾ[a]フルオレン; 3-メトキシ-8-ヒドロキシ-11-[4-[2-(1-ピベリジニル)エトキシ]フェニル]-11H-ベンゾ[a]フルオレン; 3, 8, 9-トリメトキシ-11-[4-[2-(1-ピベリジニル)エトキシ]フェニル]-11H-ベンゾ[a]フルオレン; 3, 8, 10-トリメトキシ-11-[4-[2-(1-ピベリジニル)エトキシ]フェニル]-11H-ベンゾ[a]フルオレン; 9-フルオロ-3, 8-ジメトキシ-11-[4-[2-(1-ピベリジニル)エトキシ]フェニル]-11H-ベンゾ[a]フルオレン; 9-クロロ-3, 8-ジメトキシ-11-[4-[2-(1-ピベリジニル)エトキシ]フェニル]-11H-ベンゾ[a]フルオレン; 3, 8-ジメトキシ-9-メチル-11-[4-[2-(1-ピベリジニル)エトキシ]フェニル]-11H-ベンゾ[a]フルオレン; 3, 8-ジメトキシ-9-エチル-11-[4-[2-(1-ピベリジニル)エトキシ]フェニル]-11H-ベンゾ[a]フルオレン; 8-メトキシ-11-[4-[2-(1-ピ

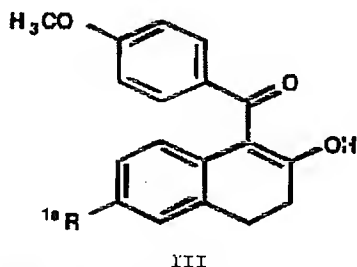
ベリジニル)エトキシ]フェニル]-11H-ベンゾ[a]フルオレン; 8-ヒドロキシ-11-[4-[2-(1-ピベリジニル)エトキシ]フェニル]-11H-ベンゾ[a]フルオレン; 8, 9-ジメトキシ-11-[4-[2-(1-ピベリジニル)エトキシ]フェニル]-11H-ベンゾ[a]フルオレン; 8, 10-ジメトキシ-11-[4-[2-(1-ピベリジニル)エトキシ]フェニル]-11H-ベンゾ[a]フルオレン; 9-フルオロ-8-メトキシ-11-[4-[2-(1-ピベリジニル)エトキシ]フェニル]-11H-ベンゾ[a]フルオレン; 9-クロロ-8-メトキシ-11-[4-[2-(1-ピベリジニル)エトキシ]フェニル]-11H-ベンゾ[a]フルオレン; 8-メトキシ-9-メチル-11-[4-[2-(1-ピベリジニル)エトキシ]フェニル]-11H-ベンゾ[a]フルオレン; 8-メトキシ-9-エチル-11-[4-[2-(1-ピベリジニル)エトキシ]フェニル]-11H-ベンゾ[a]フルオレン; 3, 8-ジメトキシ-11-[4-[2-(1-ピベリジニル)エトキシ]フェニル]-11H-ベンゾ[a]フルオレン; 3, 8-ジヒドロキシ-11-[4-[2-(1-ピベリジニル)エトキシ]フェニル]-11H-ベンゾ[a]フルオレン; 3-ヒドロキシ-8-メトキシ-11-[4-[2-(1-ピベリジニル)エトキシ]フェニル]-11H-ベンゾ[a]フルオレン; 3-メトキシ-8-ヒドロキシ-11-[4-[2-(1-ピベリジニル)エトキシ]フェニル]-11H-ベンゾ[a]フルオレン; 3, 8-ジメトキシ-11-[4-[2-(1-ピベリジニル)エトキシ]フェニル]-11H-ベンゾ[a]フルオレン; 3, 8-ジヒドロキシ-11-[4-[2-(1-ピベリジニル)エトキシ]フェニル]-11H-ベンゾ[a]フルオレン; 3-ヒドロキシ-8-メトキシ-11-[4-[2-(1-ピベリジニル)エトキシ]フェニル]-11H-ベンゾ[a]フルオレン; 3-メトキシ-8-ヒドロキシ-11-[4-[2-(1-ピベリジニル)エトキシ]フェニル]-11H-ベンゾ[a]フルオレン; 3, 8, 9-トリメトキシ-11-[4-[2-(1-ピベリジニル)エトキシ]フェニル]-11H-ベンゾ[a]フルオレン; 3, 8, 10-トリメトキシ-11-[4-[2-(1-ピベリジニル)エトキシ]フェニル]-11H-ベンゾ[a]フルオレン; 9-フルオロ-3, 8-ジメトキシ-11-[4-[2-(1-ピベリジニル)エトキシ]フェニル]-11H-ベンゾ[a]フルオレン; 9-クロロ-3, 8-ジメトキシ-11-[4-[2-(1-ピベリジニル)エトキシ]フェニル]-11H-ベンゾ[a]フルオレン; 3, 8-ジメトキシ-9-メチル-11-[4-[2-(1-ピベリジニル)エトキシ]フェニル]-11H-ベンゾ[a]フルオレン; 3, 8-ジメトキシ-9-エチル-11-[4-[2-(1-ピベリジニル)エトキシ]フェニル]-11H-ベンゾ[a]フルオレン; 8-メトキシ-11-[4-[2-(1-ピベリジニル)エトキシ]フェニル]-11H-ベンゾ[a]フルオレン; 8, 9-ジメトキシ-11-

[4-(2-(1-メチルピロリジニル)エトキシ)フェニル]-11H-ベンゾ [a] フルオレン; および8,10-ジメトキシ-11-[4-(2-(1-メチルピロリジニル)エトキシ)フェニル]-11H-ベンゾ [a] フルオレンなど。

【0016】式IIの化合物には以下のものが含まれるがこれらに限定されるものではない: 4-(3,8-ジメトキシ-11H-ベンゾ [a] フルオレン-11-イル)フェノール; 4-(3,8,9-トリメトキシ-11H-ベンゾ [a] フルオレン-11-イル)フェノール; 4-(3,8,10-トリメトキシ-11H-ベンゾ [a] フルオレン-11-イル)フェノール; 4-(9-フルオロ-3,8-ジメトキシ-11H-ベンゾ [a] フルオレン-11-イル)フェノール; 4-(9-クロロ-3,8-ジメトキシ-11H-ベンゾ [a] フルオレン-11-イル)フェノール; 4-(3,8-ジメトキシ-9-メチル-11H-ベンゾ [a] フルオレン-11-イル)フェノール; 4-(3,8-ジメトキシ-9-エチル-11H-ベンゾ [a] フルオレン-11-イル)フェノール; 4-(8-メトキシ-11H-ベンゾ [a] フルオレン-11-イル)フェノール; 4-(8,9-ジメトキシ-11H-ベンゾ [a] フルオレン-11-イル)フェノール; 4-(8,10-ジメトキシ-11H-ベンゾ [a] フルオレン-11-イル)フェノール; 4-(9-フルオロ-8-メトキシ-11H-ベンゾ [a] フルオレン-11-イル)フェノール; 4-(9-クロロ-8-メトキシ-11H-ベンゾ [a] フルオレン-11-イル)フェノール; 4-(8-メトキシ-9-メチル-11H-ベンゾ [a] フルオレン-11-イル)フェノール; および4-(8-メトキシ-9-エチル-11H-ベンゾ [a] フルオレン-11-イル)フェノールなど。

【0017】本発明の化合物を製造するための出発物質は、式III:

【化6】



[式中、 R^{1a} は-H、または $-OR^5$ (ここで、 R^5 はヒドロキシ保護基である)である]で示される化合物である。

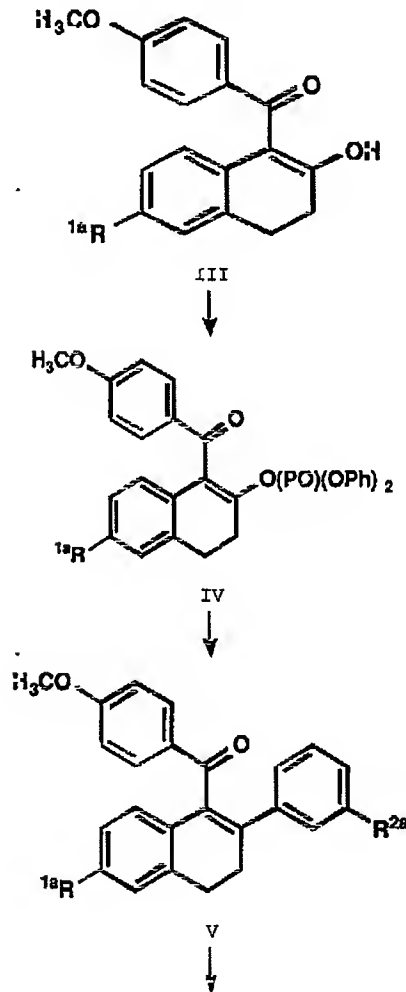
【0018】式IIIの化合物は当該分野で知られており、実質的にJonesら、米国特許第4,400,543号およびJonesら、米国特許第5,147,880号の記載に従って製造される(これらの開示内容は本明細書の一部を構成する)(Jonesら、J. Med. Chem., 35:931-8 (1992)およびJonesら、J. Med. Chem., 22: 962 (1979)も参照)。

【0019】本発明の化合物を製造するには、一般には式IIIの1-アシル化-2-テトラロンを塩基で処理してその対応するアニオンを形成させ、これをジフェニルクロロホスフェートと反応させて式IVのエノールホスフェート

誘導体を得る。式IVの化合物は、アリールGrignard試薬で処理すると反応の形としては付加-排除を受け、アリール部分による2-ホスフェート置換基による置換を生じ、式Vの化合物が生じる。チオレートアニオン脱メチル化試薬選択(selectives)による式Vの化合物の脱アルキル化では、電子吸引カルボニル基に対してパラ-に位置する基が脱アルキル化される。そのような選択的脱アルキル化の結果、式VIのフェノール化合物が生じ、これを酸触媒の影響下で環状化することができる。式VIの中間体の環状化には、式IIの生成物において完全に芳香族のナフタレン環を生成する脱水工程が伴う。式Iの化合物は本発明の化合物の中間体として役立つ。この合成経路は下記反応式Iに示す通りである(ここで、 R^{1a} および R^{2a} は前記と同意義である)。

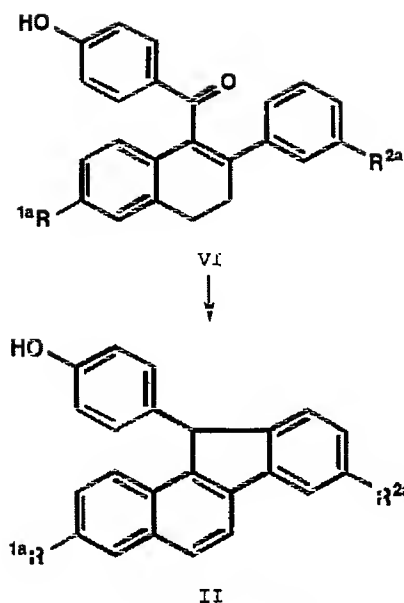
【0020】

【化7】



【0021】

【化8】



【0022】この工程の第1段階において式IIIの化合物は、実質的にJonesら、J. Med. Chem., 35: 931-8 (1992)に記載の2段階プロトコルにより式IIのジヒドロナフタレン誘導体に変換される。式IIIのエノール化合物は、ジアリールクロローまたはジアリールプロモースホフェートおよび好ましくはジフェニルクロロホスフェートであるホスホリル化試薬の1またはそれ以上の当量によってホスホリル化される。この反応はエーテル、THF、ジオキサン、酢酸エチル、トルエン、およびアセトニトリルを含む種々の不活性溶媒中、および水素化アルカリ金属、水酸化アルカリ金属、もしくは炭酸アルカリ金属、またはトリエチルアミンのようなトリアルキルアミンといった酸スカベンジャーの存在下で実施することができよう。アルカリ金属塩基または第3級アミンはホスホリル化工程において塩基性触媒として作用させることもできよう。本反応は望ましくない副生成物を避けるために氷浴温度で行うことが好ましいが、上昇した温度も使用することができる。しかし、それらはホスホリル化反応を完結させるには通常必要ではない。ホスホリル化反応の生成物、式IVのエノールホスフェート誘導体は、クロマトグラフィーのような通常の技術によって単離することができよう。しかしながら、該反応の次の段階（Grignard試薬の添加）と適合性の溶媒／酸スカベンジャー混合物を用いてエノールホスフェートを生成するのが最も好都合である。このように、窒素環境下でTHF中の水素化ナトリウムの混合物が好ましく、式IVの化合物を生じる急速なホスホリル化をもたらす。

【0023】次いで、単離またはin situで生成された中間体エノールホスフェートをアリールGrignard試薬またはアリールリチウム有機キュープレート試薬の1またはそれ以上の当量と反応させることもできよう。アリール臭化マグネシウムまたはそれ以上の当量が好まし

く、フェニル臭化マグネシウムまたは4-メトキシフェニル臭化マグネシウムが特に好ましい。典型的には、該反応は、副反応を最小化するために氷浴温度で実施されるが、反応速度を増大させるために上昇した温度を使用することができる。アリール部分の添加、次いでホスフェート脱離基の除去（反応の形としては付加、除去工程）は式Vのジヒドロナフタレン誘導体を生じ、これを結晶化またはクロマトグラフィーのような通常の技術によって単離することができる。

【0024】次に、得られる式Vのジヒドロナフタレン誘導体を脱メチル化し、式VIの中間体を得る。カルボニルに対してパラ位のメトキシ基において位置選択的脱メチル化を完結させるには求核性脱メチル化試薬を用い、アルカリ金属チオレート（有機チオールアルカリ金属塩）が好ましい。特に好ましいのは、基質に対して該脱メチル化試薬が1.2またはそれ以上の当量の程度に過剰なりチウムチオエチレートまたはリチウムチオメチレートである。反応は脱メチル化試薬を保存するために不活性環境下で、そしてチオール化試薬の求核性の性質に対して事実上不活性な溶媒中で実施される。脱メチル化に適した溶媒は2分子の求核性置換反応を最も誘導する溶媒であり、それらにはジメチルスルホキシド、ジメチルホルムアミド、ジメチルアセトアミド、およびTHFが含まれ、無水ジメチルホルムアミドが好ましい。十分な反応速度を達成すると同時に、カルボニル基に対してパラ位の部位を脱メチル化するための選択性の良好な制御も得るには、反応温度を注意深く制御することが重要である。脱メチル化工程は60℃から120℃の温度範囲で生じるであろうが、所望の生成物の収率を最大とするには80～90℃の範囲の温度を使用するのが有利である。80℃の温度が特に好ましい。好ましい反応条件下では、式VIの化合物から式Vの化合物への変換は、示した温度で約2～4時間加熱した後に完結する。

【0025】反応式Iに示す最終変換において、式VIのジヒドロナフタレン誘導体は環状化—脱水工程を受け、式IIのベンゾフルオレン誘導体が生成される。この工程は酸触媒され、種々の無機酸、Lewis酸、および有機酸を使用することができよう。これらの触媒としては、アルキルスルホン酸、アリールスルホン酸、硫酸、塩酸、臭化水素酸、ポリリン酸、および三フッ化ホウ素エタレートが挙げられる。メタンスルホン酸（生（き））、および三フッ化ホウ素エタレートが好ましく、メタンスルホン酸が特に好ましい。典型的には、該反応は室温で進行するが、反応速度を速めるにはより高い温度が有利であろう。好ましい反応条件下では、式VIの化合物から式IIの化合物への変換は、周囲温度で約5分間～約3時間攪拌した後に完結する。式IIの化合物は本発明の式Iの医薬的に活性化化合物を製造するのに有用である。式IIの化合物を製造する際に、該化合物を式VII：



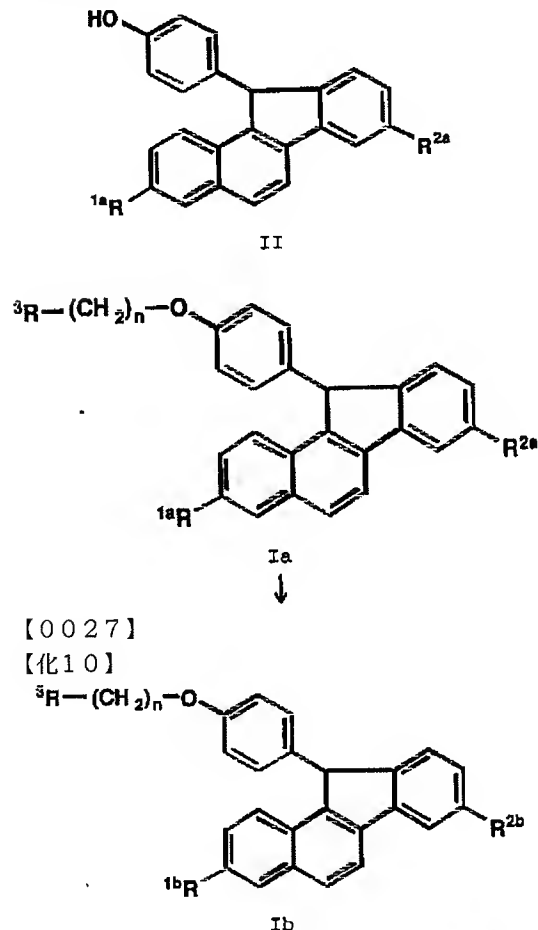
VII

〔式中、 R^3 および n は前記と同意義であり、 Q はブromo、または好ましくは、クロロ部分である〕で示される化合物と反応させ、式Iaの化合物が形成される。次に、式Iaの化合物は、 R^5 および/または R^6 ヒドロキシ保護基が存在する場合は脱保護され、式Ibの化合物が形成される。これらの工程段階は下記の反応式IIに示される。

反応式II

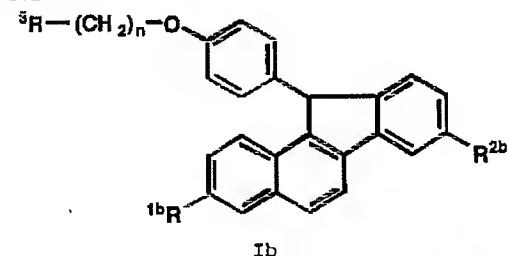
【0026】

【化9】



【0027】

【化10】



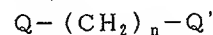
〔式中、 R^{1a} 、 R^{2a} 、 R^3 および n は前記と同意義であり、 R^{1b} は-Hまたは-OHであり、 R^{2b} は-OHである〕

【0028】反応式IIに示す工程の第1段階において、該アルキル化は標準的手順によって行われる。式VIIの化合物は市販のものを利用するか、当業者によく知られた方法によって製造される。好ましくは、式VIIの化合物の塩酸塩、特に2-クロロエチルピペリジン塩酸塩が用いられる。一般的には、少なくとも約4当量の炭酸アルカリ金属、好ましくは炭酸セシウムまたは炭酸カリウム、および適切な溶媒の存在下で、式IIの基質の少なく

とも約1当量を式VIIの化合物の2当量と反応させる。この反応の溶媒は反応を通して不活性のままである溶媒または溶媒混合物である。N,N-ジメチルホルムアミド、特にその無水形が好ましい。

【0029】この段階で使用する温度はこのアルキル化反応を完結させるのに十分なものであるべきである。周囲温度が十分かつ好ましいことが多いが、場合によってはより高い温度が必要かも知れない。好ましくは、本反応は不活性環境、特に窒素下で行われる。好ましい反応条件下では、この反応は約16〜約20時間で完結するように行われよう。もちろん、該反応の進行は標準的クロマトグラフィー技術によりモニターすることができる。

【0030】式Iaの化合物を製造するための別の方法として、式IIの化合物をアルカリ溶液の存在下で過剰の式：



〔式中、 Q および Q' はそれぞれ、アルカリ溶液中の同じまたは異なる脱離基である。〕で示されるアルキル化剤と反応させる。適切な脱離基にはメタンスルホネート、4-ブromobenzenesulfoネート、トルエンスルホネート、エタンスルホネート、イソプロピルスルホネート、4-メトキシベンゼンスルホネート、4-ニトロベンゼンスルホネート、2-クロロベンゼンスルホネート、およびトリフラートなどのようなスルホネート、ブromo、クロロおよびヨードのようなハロゲン、および他の関連脱離基が含まれる。

【0031】本アルキル化反応のための好ましいアルカリ溶液は、例えば、メチルエチルケトン（MEK）またはDMFのような不活性溶媒中の炭酸カリウムが含まれる。この溶液中には式IIの化合物のフェノール部分の4-ヒドロキシ基がフェノキシドイオンとして存在し、アルキル化剤の脱離基の1つと置換する。本反応は、反応体と試薬を含むアルカリ溶液を還流させて完結させるのが最良である。MEKを好ましい溶媒として用いる場合の反応時間は約6時間〜約20時間である。

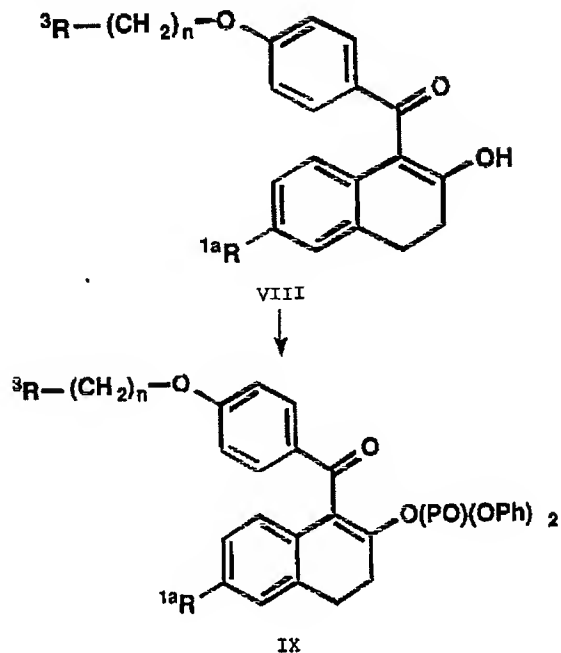
【0032】次に、この段階からの反応生成物を、標準的技術により1-ピペリジン、1-ピロリジン、メチル-1-ピロリジン、ジメチル-1-ピロリジン、4-モルホリン、ジメチルアミン、ジエチルアミンもしくは1-ヘキサメチレンイミン、または他の第2級アミンと反応させ、式Iaの化合物を形成させる。好ましくは、ピペリジンの塩酸塩を、無水DMFのような不活性溶媒中で式Ibのアルキル化された化合物と反応させ、約60℃〜約110℃の範囲の温度に加熱する。該混合物を約90℃の好ましい温度に加熱する場合は、反応は約30分〜約1時間しかかからない。しかしながら、反応条件の変化は、この反応が完結するのに要する時間の量に影響するであろう。もちろん、標準的クロマトグラフィー技術を用いて本反応段階の進行をモニターすることができる。

【0033】本発明の化合物を製造するための別の経路を反応式IIIに示す(ここで、 R^{1a} 、 R^{2a} 、および R^3 は前記と同意義である)。

反応式III

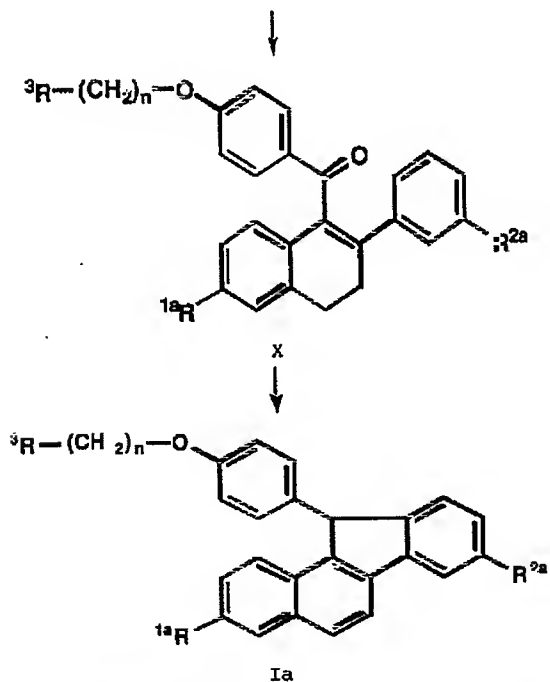
【0034】

【化11】



【0035】

【化12】



【0036】この別の経路では、出発物質、式VIIIの1-アシル化-2-テトラロンはすでに塩基性側鎖部分を含んでいる。式VIIIの化合物を塩基で処理し、その対応するアニオンを形成させ、これをジフェニルクロロホスフェートと反応させて、式IXのエノールホスフェート誘導体

を得る。式IXの化合物はアリールGrignard試薬で処理すると反応の形としては付加-除去を受け、アリール部分による2-ホスフェート置換基の置換が生じ、式Xのジヒドロナフタレン化合物が生成される。式Xの化合物を、酸性条件下で環状化し、本発明の式Iaの化合物とするこ

とができる。

【0037】既に塩基性側鎖を保持している式VIIIのエノール化合物は、ジアリールクロロまたはジアリールブロモホスフェート、および好ましくはジフェニルクロロホスフェートである、ホスホリル化試薬の1またはそれ以上の当量によってホスホリル化される。この反応は、水素化アルカリ金属、水酸化アルカリ金属もしくは炭酸アルカリ金属、またはトリエチルアミンのようなトリアルキルアミンといった酸スカベンジャーの存在下で、エーテル、THF、ジオキサン、酢酸エチル、トルエン、およびアセトニトリルを含む種々の不活性溶媒中で実施することができよう。アルカリ金属塩基または第3級アミンは、ホスホリル化工程中で塩基性触媒として作用することもできよう。本反応は望ましくない副生成物を避けるために氷浴温度で行うことが望ましいが、上昇した温度も使用することができる。しかし、それらはホスホリル化反応を完結させるには通常必要ではない。ホスホリル化反応の生成物、式IXのエノールホスフェート誘導体は、クロマトグラフィーのような通常の技術によって単離することができよう。しかしながら、該反応の次の段階（Grignard試薬の添加）と適合性（融和性）の溶媒/酸スカベンジャー混合物を用いてエノールホスフェートを生成するのが最も好都合である。このように、窒素環境下でTHF中の水素化ナトリウムの混合物が好ましく、式IXの化合物を生じる急速なホスホリル化をもたらす。

【0038】式IXの中間体エノールホスフェートを単離またはin situで生成させ、次いで、アリールGrignard試薬またはアリールリチウム有機キュープレート試薬の1またはそれ以上の当量と反応させることもできよう。アリール臭化マグネシウムの1またはそれ以上の当量が好ましく、フェニル臭化マグネシウムまたは4-メトキシフェニル臭化マグネシウムが特に好ましい。典型的には、該反応は、副反応を最小化するために氷浴温度で実施されるが、反応速度を増大させるために上昇した温度を使用することができる。アリール部分の添加、次いでホスフェート脱離基の除去（反応の形としては付加、除去工程）は式Xのジヒドロナフタレン誘導体を直接生じ、これを遊離塩基または塩の結晶化または前者のクロマトグラフィーのような通常の技術によって単離することができる。

【0039】反応式IIIに示す最終の変換において、式Xのジヒドロナフタレン誘導体は環状化-脱水工程を経て、式Iaのベンゾフルオレン誘導体が生成される。この工程は酸触媒され、種々の無機酸、Lewis酸および有機酸を用いてよい。これらの触媒として、アルキルスルホン酸、アリールスルホン酸、硫酸、塩酸、臭化水素酸、ポリリン酸、および三フッ化ホウ素エタレートが挙げられる。メタンスルホン酸（生（き））、および三フッ化ホウ素エタレートが好ましく、エタンスルホン酸が特に

好ましい。典型的には、該反応は室温で進行するが、反応速度を速めるにはより高い温度が有利であろう。好ましい反応条件下では、式Xの化合物から式IIaの化合物への変換は、周囲温度で約5分間～約3時間攪拌した後で完結する。

【0040】式Ia（ここで、R⁵および/またはR⁶は、（存在する場合は）C₁-C₆アルキル、好ましくはメチルである）の化合物は、本明細書に記載の方法において医薬的に活性である。したがって、そのような化合物は式Iの化合物の本明細書中の定義に含まれる。式Iの好ましい化合物は、よく知られた手順により、式Iaの化合物のR⁵およびR⁶ヒドロキシ保護基（存在する場合は）を開裂させることによって得られる。そのような保護基を形成および除去するための多くの反応は、例えば、Protective Groups in Organic Chemistry, Plenum Press (London and New York, 1973); Green, T. W., Protective Groups in Organic Synthesis, Wiley, (New York, 1981); および The Peptides, Vol. I, Schroeder and Lubke, Academic Press (London and New York, 1965)を含む多くの標準的研究中に記載されている。好ましいR⁵および/またはR⁶ヒドロキシ保護基、特にメチルを除去する方法は、本質的に下記の実施例中に記載の通りである。他の式Iの好ましい化合物は、3および/または8-位のヒドロキシ部分（存在する場合は）をよく知られた手順により式：-O-CO-(C₁-C₆アルキル)または-O-SO₂-(C₂-C₆アルキル)の部分で置換することにより製造される（例えば、米国特許第4,358,593号参照、この開示内容は本明細書の一部を構成する）。

【0041】例えば、-O-CO-(C₁-C₆アルキル)基を所望するときは、式Iのモノ-またはジヒドロキシ化合物を、アシルクロリド、ブロミド、シアニドもしくはアジドのようなアシル化剤、または適切な無水物または混合無水物と反応させる。該反応は、ピリジン、ルチジン、キノリンもしくはイソキノリンのような塩基性溶媒中、またはトリエチルアミン、トリブチルアミン、メチルピペリジンなどのような第3級アミン溶媒中で好都合に行われる。該反応は、第3級アミンのような酸スカベンジャー（下記のものを除く）の少なくとも1当量を加えた、酢酸エチル、ジメチルホルムアミド、ジメチルスルホキシド、ジオキサン、ジメトキシエタン、アセトニトリル、アセトン、メチルエチルケトンなどのような不活性溶媒中で実施することもできよう。所望により、4-ジメチルアミノピリジンまたは4-ピロリジノピリジンのようなアシル化触媒を使用してよい（例えば、Haslamら、Tetrahedron, u:2409-2433 (1980)参照）。

【0042】本発明は、しばしば窒素ガスのような不活性環境下で、約-25℃～約100℃の範囲で、適度の温度で実施される。しかしながら、該反応を行うには、通常、周囲温度が適当である。3-位および/または8-位の

ヒドロキシ基のアシル化は、不活性有機溶媒中の適切なカルボン酸の酸触媒反応によって実施することもできる。硫酸、ポリリン酸、メタンスルホン酸などのような酸触媒が用いられる。前記の式IのR¹および/またはR²基は、ジクロロヘキシルカルボジイミド、アシルイミダゾール、ニトロフェノール、ペンタクロロフェノール、N-ヒドロキシサクシニミド、および1-ヒドロキシベンゾトリアゾールのようなそのような知られた試薬によって形成されたエステルのような適切な酸の活性エステルを形成することによって得ることもできる（例えば Bull. Chem. Soc. Japan, 38: 1979 (1965)、および Chem. Ber., 788および2024 (1970)参照）。

【0043】-O-CO-(C₁-C₆アルキル)部分を提供する上記の各技術は、上記のごとく溶媒中で実施される。該反応の経過中に酸生成物を生じないそれらの技術は、もちろん、反応混合物中の酸スカベンジャーの使用を必要としない。式Iの化合物の3-および/または8-位のヒドロキシ基が式：-O-SO₂-(C₂-C₆アルキル)で示される基に変換される式Iの化合物を所望する場合は、モノ-またはジヒドロキシ化合物は、例えば、KingおよびMonoir, J. Am. Chem. Soc., 97:2566-2567 (1975)に記載の、スルホン酸無水物もしくはスルホニルクロリド、プロミドのような適切なスルホン酸の誘導体、またはスルホニルアンモニウム塩と反応させる。ジヒドロ化合物を適切なスルホン酸無水物または混合スルホン酸無水物と反応させることもできる。そのような反応は酸ハロゲン化物などを用いる反応の考察において上記に説明したような条件下で実施される。

【0044】式Iの化合物の遊離塩基形は本発明の方法において使用することができるが、医薬的に許容される塩の形を製造して使用することが好ましい。本発明の方法に使用される化合物は、主として、広範囲の有機酸及び無機酸と医薬的に許容される酸付加塩を形成し、薬化学においてしばしば使用される生理学的に許容し得る塩を含む。このような塩もまた、本発明の一部を構成する。このような塩の形成に使用される典型的な無機酸には、塩酸、臭化水素酸、ヨウ化水素酸、硝酸、硫酸、リン酸、次リン酸などが含まれる。脂肪族のモノ及びジカルボン酸、フェニル置換されたアルカン酸、ヒドロキシアルカン酸及びヒドロキシアルカン二酸、芳香族の酸、脂肪族及び芳香族のスルホン酸などの有機の酸から誘導される塩もまた使用し得る。従って、このような医薬的に許容される塩には酢酸塩、フェニル酢酸塩、トリフルオロ酢酸塩、アクリル酸塩、アスコルビン酸塩、安息香酸塩、クロロ安息香酸塩、ジニトロ安息香酸塩、ヒドロキシ安息香酸塩、メトキシ安息香酸塩、メチル安息香酸塩、o-アセトキシ安息香酸塩、ナフタレン-2-安息香酸塩、臭化物、イソ酪酸塩、フェニル酪酸塩、β-ヒドロキシ酪酸塩、ブチン-1, 4-二酸塩、ヘキシン-1, 4-二酸塩、カプリン酸塩、カプリル酸塩、塩化

物、ケイ皮酸塩、クエン酸塩、ギ酸塩、フマル酸塩、グリコール酸塩、ヘプタン酸塩、馬尿酸塩、乳酸塩、リンゴ酸塩、マレイン酸塩、ヒドロキシマレイン酸塩、マロン酸塩、マンデル酸塩、メシラート、ニコチン酸塩、イソニコチン酸塩、硝酸塩、シュウ酸塩、フタル酸塩、テレフタル酸塩、リン酸塩、リン酸一水素塩、リン酸二水素塩、メタリン酸塩、ピロリン酸塩、アロピオール酸塩、アロピオン酸塩、フェニルアロピオン酸塩、サリチル酸塩、セバシン酸塩、コハク酸塩、スベリン酸塩、硫酸塩、重硫酸塩、ピロ硫酸塩、亜硫酸塩、重亜硫酸塩、スルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、p-プロモフェニルスルホン酸塩、クロロベンゼンスルホン酸塩、エタンスルホン酸塩、2-ヒドロキシエタンスルホン酸塩、メタンスルホン酸塩、ナフタレン-1-スルホン酸塩、ナフタレン-2-スルホン酸塩、p-トルエンスルホン酸塩、キシレンスルホン酸塩、酒石酸塩などが含まれる。好ましい塩は塩酸塩である。

【0045】医薬的に許容される酸付加塩は、典型的には式Iの化合物を等モルまたは過剰量の酸と反応させることによって形成する。反応成分は一般に、ジエチルエーテルまたは酢酸エチルなどの相互溶媒中で混合する。塩は普通、約1時間から10日以内に溶液から沈殿し、濾過によって分離するかまたは慣用の方法によって溶媒を除去し得る。

【0046】さらに、本発明は、治療の必要な、ヒトを含む哺乳類に投与するための、有効量の式Iの化合物と医薬的に許容される希釈剤または担体とを含有する医薬的に許容される製剤を提供する。

【0047】本明細書中に使用される「有効量」なる用語は、さらに、骨損失または骨再吸収、特に骨粗鬆症、および高脂血症を含む心血管関連の病的状態ならびに他の心血管系の病状に罹患したヒトを含む哺乳動物の症状を阻害し、軽減し、改善し、治療し、もしくは予防することができる本発明の化合物の量を意味する。エストロゲン依存性腫瘍の場合には、用語「有効量」はヒトを含む哺乳動物における癌および/またはその症状を治療し、予防し、癌の増殖を軽減し、改善し、もしくは阻害することができる本発明の化合物の量を意味する。

【0048】「医薬的に許容される製剤」とは、担体、希釈剤、添加剤及び塩が活性成分（式Iの化合物）と適合しなければならず、その受容者に有害であってはならないことを意味する。医薬製剤は当技術分野において知られている手法によって製造することができる。例えば、本発明の化合物は、一般的な添加剤、希釈剤、または担体と共に製剤化することができ、錠剤、カプセル剤などに形成することができる。このような製剤に適当な賦形剤、希釈剤、及び担体の例には次のものが含まれる：デンプン、糖類、マンニトール及びケイ酸誘導体などの賦形剤及び展開剤、カルボキシメチルセルロース及び他のセルロース誘導体、アルギン酸塩、ゼラチン、及

びポリビニルピロリドンなどの結合剤、グリセリンなどの湿潤剤、寒天、炭酸カルシウム及び重炭酸ナトリウムなどの崩壊剤、パラフィンなどの溶出遅延剤、第四級アンモニウム化合物などの吸収促進剤、セチルアルコール、グリセリンモノステアレートなどの界面活性剤、カオリン及びベントナイトなどの吸着担体、タルク、ステアリン酸カルシウム及びステアリン酸マグネシウム、及び固体のポリエチレングリコールなどの滑沢剤。

【0049】最終的な剤形は、使用する添加剤によって次のようなものであってよい：丸剤、錠剤、散剤、トローチ、シロップ剤、エアゾール、サシェ剤、カシェ剤、エリキシル剤、懸濁剤、エマルジョン剤、軟膏、坐剤、滅菌注射液剤、または滅菌包装された散剤など。

【0050】さらに本発明の化合物は、徐放性の投与剤形の製剤によく適合する。該製剤は、唯一または好ましくは腸管の特定部分において、できるだけ一定期間活性成分を放出するように構成することもできる。このような製剤は、高分子物質またはワックス類から製造し得る、コーティング、外被、または保護マトリックスを含

製剤例1：ゼラチンカプセル

成分	量 (mg/カプセル)
活性成分	0.1-1000
デンブンNF	0-500
デンブン (流動性粉末)	0-500
シリコーン液 350センチストーク	0-15

成分を混合し、No. 45メッシュU. S. シーブに通し、硬質ゼラチンカプセル中へ充填する。

【0054】

製剤例2：錠剤

成分	量 (mg/錠剤)
活性成分	2.5-1000
デンブン	10-50
セルロース (微結晶)	10-20
ポリビニルピロリドン (10%水溶液)	5
ナトリウムカルボキシメチルセルロース	5
ステアリン酸マグネシウム	1
タルク	1-5

活性成分、デンブン及びセルロースをNo. 45メッシュU. S. シーブに通し、十分に混合する。この粉末とポリビニルピロリドンの溶液を混合し、次いでNo. 14メッシュU. S. シーブに通す。このようにして得られる顆粒を50-60℃で乾燥し、No. 18メッシュU. S. シーブに通す。あらかじめNo. 60メッシュU. S. シーブに

むであらう。

【0051】本発明では、前記疾患に罹患しているヒトを含む哺乳類の症状及び/または疾患を阻止するのに必要な、式Iの化合物の具体的な投与量は、具体的な疾患、症状、及び重症度に依存するであらう。投与量、投与の経路、及び投与の頻度は、担当の医師が決定するのがもっともよい。一般に、受け入れられ、効果的である投与量 (dosage) は、15mg-1000mgであり、より典型的には、15mg-80mg (1-3回/日) であらう。このような投与量を、治療に必要な患者に対し、通常少なくとも1カ月間、より典型的には6カ月間、または慢性的に投与する。

【0052】以下の製剤例は、説明を目的とするものであって、何ら限定を意図するものではない。このような製剤中の全活性成分は製剤重量の0.1%-99.9%を構成する。「活性成分」なる語は、式Iの化合物を意味する。

【0053】

通したナトリウムカルボキシメチルセルロース、ステアリン酸マグネシウム、及びタルクを上記顆粒に加え、十分に混合する。得られる物質を、打錠器で圧縮して錠剤を得る。

【0055】

製剤例3：エアロゾル剤

成分	量 (重量%)
活性成分	0.25
エタノール	29.75
プロペラント22 (クロロジフルオロメタン)	70.00
合計	100.00

活性成分をエタノールと混合し、この混合物をプロペラント22の部分に加え、-30℃に冷却して充填器に移

す。次いで所要量をステンレススチールの容器に入れ残りのプロペラントで希釈する。次にバルブユニットをこ

の容器に取り付ける。

製剤例4：坐剤

成分	量 (mg)
活性成分	150
飽和脂肪酸グリセリド	3000

活性成分をNo. 60メッシュU. S. シーブに通して、あらかじめ融点に加熱した脂肪酸グリセリドに懸濁する。この混合物を坐剤用の鋳型に入れ、冷却する。

成分	量
活性成分	0.1-1000mg
ナトリウムカルボキシメチルセルロース	50mg
シロップ	1.25mL
安息香酸溶液 (0.1M)	0.10mL
香料	q. v.
着色料	q. v.
精製水を加えて5mLとする	

式Iの化合物をNo. 45メッシュU. S. シーブに通し、ナトリウムカルボキシメチルセルロース及びシロップと混合してなめらかなペーストにする。水で希釈した安息香酸溶液、香料、及び着色料を加え、混合物を十分に攪拌する。さらに水を最終の容量まで加えて製剤を得る。

【0058】以下の実施例及び製造例は、本発明の実施をよりよく説明するためのものであって、本発明の範囲を限定するものと解釈すべきではない。当業者は、本発明の精神と範囲から離れることなく様々な改変を加えることができるということを認識するであろう。本明細書に示したすべての刊行物及び特許出願は、本発明が関係する当業者の水準を示すものである。

【0059】以下の実施例のNMRデータはGE 300 MHz NMR装置から得られ、溶媒には特記しないかぎり無水CDCl₃を用いた。¹³C NMRスペクトルのフィールドの強度は特記しない限り75.5 MHzであった。

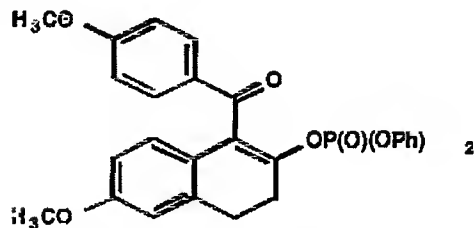
【0060】

【実施例】

製造例1

3, 4-ジヒドロ-1- (4-メトキシベンゾイル) -6-メトキシ-2-ナフタレニルジフェニルリン酸エステル

【化13】



【0061】N₂下、5°Cの15 mLのCH₂Cl₂中の3, 4-ジヒドロ-6-メトキシ-1- (4-メトキシベンゾイル) -2 (1H)-ナフタレノン (1.50 g, 0.0048 mol)の溶液に、ジフェニルクロロホスフェート (1.36 g, 0.0051 mol)および4-ジメチルアミノピリジン(5mg)を加えた。次に、

【0056】

成分	量 (mg)
活性成分	150
飽和脂肪酸グリセリド	3000

【0057】製剤例5：懸濁剤

5mL用量あたり、式Iの化合物を0.1-1000mg含有する懸濁剤。

成分	量
活性成分	0.1-1000mg
ナトリウムカルボキシメチルセルロース	50mg
シロップ	1.25mL
安息香酸溶液 (0.1M)	0.10mL
香料	q. v.
着色料	q. v.

反応温度を5°C以下に保ちながら、CH₂Cl₂ (20 mL)中のトリエチルアミン(0.514 g, 0.0051 mol)を10分間かけて滴加した。得られる混合物を一夜攪拌し、次いでそれを塩水および氷に注ぎ、粗成生物をEtOAc (50mL)で抽出した。有機層を塩水でよく洗浄し、無水K₂CO₃で乾燥し、蒸発させて黄色油状物2.92 gを得た。トルエン中の10% EtOAcを利用するシリカゲルクロマトグラフィーにより黄色油状の所望の生成物2.17 g (83%)を得た。この物質はM/e542でのフィールドデソープションマスマスペクトルにおいて強いピークを生じ、NMR分光法により実質的に単一成分であった。それにも関わらず、該物質は結晶化することができず、満足な炭素の燃焼分析結果は得られなかった。

質量分析：(C₃₁H₂₇PO₇)として

理論値：C, 68.63; H, 5.02; O, 12.96。

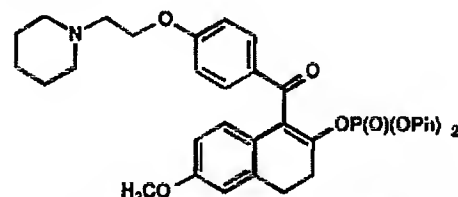
実測値：C, 65.37; H, 4.89; O, 13.26。

¹H NMR (CDCl₃) δ 7.91 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.20-6.97 (m, 9H), 6.95-6.73 (m, 5H), 6.58 (dd, J = 8.5 Hz, J = 2.4 Hz, 1H), 3.83 (s, 3H), 3.75 (s, 3H), 3.07 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 2.88 (t, J = 7.8 Hz, 2H); MS (FD) m/e 542 (M⁺)

【0062】製造例2

3, 4-ジヒドロ-1- [4- [2- (1-ピペリジニル) エトキシ]ベンゾイル] -6-メトキシ-2-ナフタレニルジフェニルリン酸エステル

【化14】



【0063】本化合物は製造例1の化合物と類似の方法

により製造された。

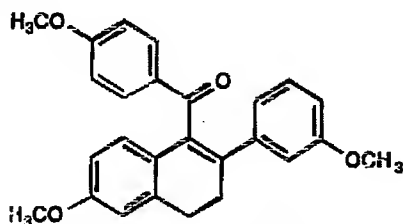
外観：暗黄色油状物。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 7.85 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 7.39-6.92 (m, 9H), 6.92-6.69 (m, 5H), 6.57 (dd, $J = 8.5$ Hz, $J = 2.4$ Hz, 1H), 4.03 (t, $J = 5.9$ Hz, 2H), 3.77 (s, 3H), 3.07 (t, $J = 8.1$ Hz, 2H), 2.89 (t, $J = 8.1$ Hz, 2H), 2.78 (t, $J = 7.2$, 2H), 2.62-2.42 (m, 4H), 1.77-1.55 (m, 4H), 1.55-1.37 (m, 2H); MS (FD) m/e 639 (M^+).

【0064】製造例3

3, 4-ジヒドロ-6-メトキシ-2-(3-メトキシフェニル)-1-ナフタレニル(4-メトキシフェニル)メタノン

【化15】



【0065】水素化ナトリウム(鉱物油中60%, 5.4g, 0.135 mol)を窒素環境下で無水THF(80 mL)に懸濁し、混合物を氷浴中で5℃に冷却した。THF(150 mL)中の3, 4-ジヒドロ-6-メトキシ-1-(4-メトキシベンゾイル)-2(1H)-ナフタレノン(38.0g, 0.122 mol)およびジフェニルクロロホスフェート(36.3g, 28.0 mL, 0.135 mol)からなる溶液を、反応混合物の温度が10℃以下に保たれるような速度で加えた。最初の急速な酸素ガスの放出後、反応混合物を、氷浴での冷却を続けながら2時間撹拌した。TLC(SiO_2 , トルエン-EtOAc 9-1)による少量の試料の分析により、エノールホスフェート中間体の実質的に定量的な形成が示された。反応混合物を0℃付近に維持し、3-メトキシフェニル臭化マグネシウム(THF中の0.74 M溶液250 mL, 0.185 mol)を、約5分間かけてカニューレで加えた。得られる混合物を2時間0℃で撹拌し、次いで一夜25℃に温めた。TLC分析では、エノールホスフェートの減少は、高Rfで移動する主要生成物の形成を伴っていた。大量の過剰な氷冷 NH_4Cl 溶液に注いで反応を止め、粗生成物を酢酸エチルで抽出した。有機抽出物を塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させた。濾過し、溶媒を除去した後、褐色油状物を得た。該油状物をヘキサン/クロロホルム勾配を用いるシリカゲルクロマトグラフィーにより精製した。適切な分画をプールして濃縮することにより、琥珀色油状物40.3g(83%)を得た。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 7.85 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 7.10-7.0 (m, 1H), 6.90-6.70 (m, 6H), 6.70-6.60 (m, 2H), 3.80 (s, 6H), 3.67(s, 3H), 3.10-2.90 (m, 2H), 2.90-2.70 (m, 2H); MS (FD) m/e 400(M^+);

質量分析: $\text{C}_{26}\text{H}_{24}\text{O}_4$ として

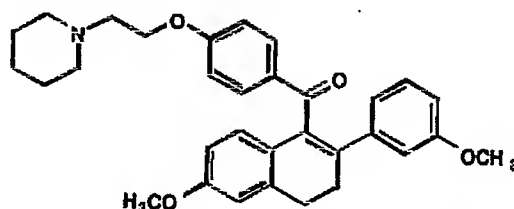
理論値: C, 77.98; H, 6.04; N, 0.00。

実測値: C, 77.49; H, 6.20; N, 0.00。

【0066】製造例4

[3, 4-ジヒドロ-6-メトキシ-2-(3-メトキシフェニル)-1-ナフタレニル][4-(2-(1-ピペリジニル)エトキシ)フェニル]メタノン 塩酸塩

【化16】



【0067】水素化ナトリウム(鉱物油中60%, 2.68g, 0.067 mol)を窒素環境下で無水THF(300 mL)中に懸濁させ、この懸濁液を5℃に冷却した。最少量のTHF中の製造例2の化合物(26.0g, 0.0638 mol)からなる溶液を滴加し、水素の放出が静まった後、混合物を冷却したまま1時間撹拌し、エノレート形成を完結させた。冷却を続けながら、THF(75 mL)中のジフェニルクロロホスフェート(17.1g, 13.2 mL, 0.0638 mol)を、反応混合物の温度が10℃以下に保たれるような速度で加えた。添加終了後、撹拌を続けながら反応混合物を室温に温めた。TLC(SiO_2 , トルエン-EtOAc 9-1)による少量の試料の分析により、エノールホスフェート中間体の実質的に定量的な形成が示された。反応混合物を5℃付近に維持し、3-メトキシフェニル臭化マグネシウム(THF中の0.64 M溶液150 mL, 0.096 mol)をカニューレで加えた。得られる混合物を0℃で1時間撹拌し、次いで25℃に温め、さらに1時間撹拌した。反応物を冷却したままに保ち、1N硫酸50 mLを徐々に加えて注意深く反応を止めた。pHを7.0に調整した後、THFのほとんどを減圧で除去した。水性残留物を水およびクロロホルム間に分配した。有機層を塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させた。濃縮して油状物を得、これをクロロホルム〜95:5クロロホルム:メタノールの勾配を利用するシリカゲルクロマトグラフィーで精製して生成物を溶出した。適切な分画から粗遊離塩基36gを得、これをメタノールに溶解し、過剰の5N HCl溶液で処理し、次いで濃縮し、乾燥させた。残留物をメタノール-酢酸エチルから再結晶し、所望の塩酸塩27.8g(82%)を得た。

$^1\text{H NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$) δ 10.09 (bs, 1H), 7.76 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 7.11-7.02 (m, 2H), 6.94 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 6.86 (d, $J = 1.2$ Hz, 1H), 6.81-6.72 (m, 2H), 6.66 (dd, $J = 8.2$ Hz, 2.5, 1H), 6.61 (d, $J = 3.1$ Hz, 1H), 4.37 (t, $J = 4.6$ Hz, 2H), 3.69 (s, 3H), 3.57 (s, 3H), 3.01-2.82 (m, 4H), 2.78-2.63 (m, 2H), 1.81-1.58 (m,

5H), 1.31 (m, 1H); MS (FD) m/e 497 (M⁺; HClの低下);

質量分析: C₃₂H₃₆ClNO₄として

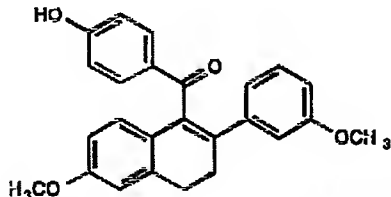
理論値: C, 71.96; H, 6.79; N, 2.62.

実測値: C, 71.69; H, 6.77; N, 2.48.

【0068】製造例5

3, 4-ジヒドロ-6-メトキシ-2-(3-メトキシフェニル)-1-ナフタレニル(4-ヒドロキシフェニル)メタノン

【化17】



【0069】1 L-首RBフラスコ中の乾燥窒素環境下にて-78℃で、無水エチルエーテル(300 mL中のEtSH (12.5 g, 14.9 mL, 0.20 mol)に、1.6M n-BuLi (113 mL, 0.180 mol)をシリンジで1時間かけて徐々に加えた。添加終了後、減圧下でエーテルを除去し、無水DMF (150 mL)中の3, 4-ジヒドロ-6-メトキシ-2-(3-メトキシフェニル)-1-ナフタレニル(4-メトキシフェニル)メタノン(24.0 g, 0.065 mol)の溶液を加えた。反応混合物を2.5時間70-80℃に加熱し、次いで20時間65℃に加熱した。TLC分析(SiO₂, トルエン-EtOAc 9-1)により出発物質がほとんどなくなったことが示された。低R_fでは2つのスポットが存在した。これらは所望の生成物と対応するジフェノール(最も低いスポット)のものであった。反応混合物を冷却させ、次いで500 mLの氷冷1N HCl溶液中に注ぎ入れた。粗生成物はEtOAc中に抽出された。EtOAc層を飽和水性NaCl溶液で洗浄し、無水MgSO₄で乾燥し、蒸発させて黄色油状物を得た。該生成物を、95:5クロロホルム:メタノールに直線的に変化するクロロホルムからなる勾配を用いるシリカゲルクロマトグラフィーにより精製した。適切な分画を蒸発させた後に黄色油状物を得、これをエチルエーテルから再結晶して所望の生成物21.3 g, (54%)を得た。

融点 197-8℃。

¹H NMR (CDCl₃) δ 7.76 (d, J = 8.6 Hz, 2H), 7.10-7.00 (m, 1H), 6.90-6.70 (m, 4H), 6.70-6.60 (m, 4H), 6.07 (bs, 1H), 3.78 (s, 3H), 3.62 (s, 3H), 3.10-2.90 (m, 2H), 2.90-2.70 (m, 21H); MS (FD) m/e 386 (M⁺);

質量分析: C₂₅H₂₂O₄として

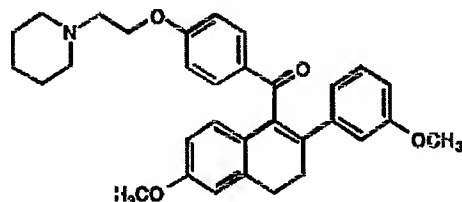
理論値: C, 77.70; H, 5.74.

実測値: C, 77.45; H, 5.66.

【0070】製造例6

3, 4-ジヒドロ-6-メトキシ-2-(3-メトキシフェニル)-1-ナフタレニル(4-[2-(1-ピペリジニル)エトキシ]フェニル)メタノン

【化18】



【0071】3, 4-ジヒドロ-6-メトキシ-2-(3-メトキシフェニル)-1-ナフタレニル(4-ヒドロキシフェニル)メタノン(3.5 g, 9.0 mmol)、無水K₂CO₃(6.25 g, 45 mmol)、N-2-クロロエチルピペリジン塩酸塩(1.75 g, 9.5 mmol, Aldrich Chem. Co.)、KI 10 mg、および無水DMF (150 mL)を窒素環境下で混合し、得られる混合物を室温で16時間攪拌した。DMFを減圧下で除去し、残留物を水および酢酸エチル中に分配した。有機層を分離し、塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させた。油状物に濃縮した後、生成物をクロロホルム~95:5クロロホルム:メタノールの勾配を用いるカラムシリカゲルクロマトグラフィーにより精製した。適切な分画について、溶媒を蒸発させ、残留物を80℃で一夜減圧乾燥させ、油状物3.1 g (69%)を得た。

¹H NMR (CDCl₃) δ 7.80 (d, J = 9.0 Hz, 2H), 7.10-7.00 (m, 1H), 6.90-6.70 (m, 6H), 6.70-6.68 (m, 2H), 4.09 (t, J = 5.9 Hz, 2H), 3.78 (s, 3H), 3.65 (s, 3H), 3.02 (t, J = 8.1 Hz, 2H), 2.90-2.70 (m, 4H), 2.60-2.40 (m, 3H), 1.70-1.50 (m, 5H), 1.50-1.01 (m, 2H); MS (FD) m/e 497 (M⁺);

質量分析: C₃₂H₃₆NO₄として

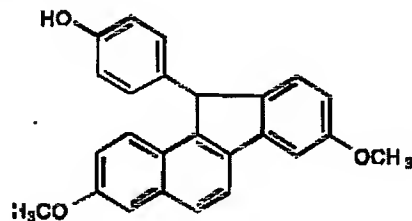
理論値: C, 77.24; H, 7.09; N, 2.82.

実測値: C, 77.05; H, 7.19; N, 3.05.

【0072】実施例1

4-(3, 8-ジメトキシ-11H-ベンゾ[a]フルオレン-11-イル)フェノール

【化19】



【0073】3, 4-ジヒドロ-6-メトキシ-2-(3-メトキシフェニル)-1-ナフタレニル(4-メトキシフェニル)メタノン(5.0 g, 12.95 mmol)を98%メタンスルホン酸(50 mL)に加え、これを25℃、窒素環境下で勢よく攪

拌した。得られる暗色の反応混合物を15分間攪拌し、次いで水(300 g)を加えて反応を止めた。次に、粗生成物を酢酸エチルの2 x 100 mL部分で抽出した。混合抽出物を塩水および飽和重炭酸ナトリウム溶液で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、濃縮した。得られる油状固形物を、最初トルエン：酢酸エチル 95：5 からなり、直線的に75：25へと変化する勾配系を用いるシリカゲルクロマトグラフィーにより流速 150 mL/分で40分間かけて精製した。適切な分画を混合し、濃縮して非晶質固形の所望の生成物3.0 gを得た。

^1H NMR (DMSO- d_6) δ 9.18 (s, 1H), 8.02 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.85 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.51-7.43 (m, 2H), 7.36 (s, 1H), 7.07 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.00 (dd, J = 9.0 Hz, J = 2.5 Hz, 1H), 6.79 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 6.72 (dd, J = 8.4 Hz, J = 2.3 Hz, 1H), 6.57 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 5.27 (s, 1H), 3.80 (s, 3H), 3.79 (s, 3H); MS (FD) m/e 368 (M⁺);

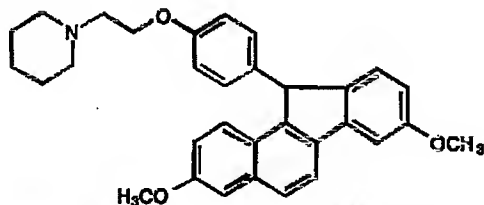
質量分析: $\text{C}_{25}\text{H}_{20}\text{O}_3$ として

理論値: C, 81.50; H, 5.47; O, 13.03.

実測値: C, 81.21; H, 5.63.

【0074】実施例 23, 8-メトキシ-11-[4-[2-(1-ピペリジニル)エトキシ]フェニル]-11H-ベンゾ[a]フルオレン

【化20】



【0075】実施例1で使用したのと類似の手順により、製造例4の生成物の塩酸塩(300 mg)をメタンスルホン酸(3 mL)を用いて環状化した。反応を15分間進行させ、次いで大量の過剰な氷冷飽和重炭酸ナトリウム溶液に反応混合物を少しずつ注意深く加えて反応を止めた。発泡が止まったときに、生成物を酢酸エチル2 x 100 mL部分で抽出した。混合有機抽出物を塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、濃縮してクリーム色固形の所望の生成物(253 mg, 94%)を得た。

融点 158-9°C.

^1H NMR (DMSO- d_6) δ 8.04 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 7.87 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 7.51-7.43 (m, 2H), 7.36 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 7.09-6.94 (m, 2H), 6.90 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 6.80-6.65 (m, 3H), 5.34 (s, 1H), 3.94 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 3.81 (s, 3H), 3.79 (s, 3H), 2.55 (t, J = 5.65 Hz, 2H), 2.40-2.22 (m, 4H), 1.51-1.32 (m, 5H), 1.31-1.22 (m, 1H), (M⁺);

質量分析: $\text{C}_{32}\text{H}_{33}\text{NO}_3$ 0.5 mol H_2O

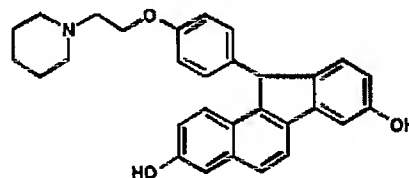
理論値: C, 80.14; H, 6.93; N, 2.92.

実測値: C, 78.66; H, 7.01; N, 2.87.

【0076】実施例 3

3, 8-ジヒドロキシ-11-[4-[2-(1-ピペリジニル)エトキシ]フェニル]-11H-ベンゾ[a]フルオレン 塩酸塩

【化21】



【0077】0°C、 N_2 下で、無水塩化メチレン500 mL中の[3, 4-ジヒドロ-6-メトキシ-2-(3-メトキシフェニル)-1-ナフタレニル][4-[2-(1-ピペリジニル)エトキシ]フェニル]メタノン塩酸塩(10.00 g, 18.7 mmol)の溶液に、三臭化ホウ素(8.85 mL, 0.00 mmol)を加えた。得られた混合物を0~5°Cで5時間攪拌した。次に、反応物を冷飽和重炭酸ナトリウム(大過剰の)の攪拌溶液に注ぎ入れた。ガスの発泡が止まったときに、水性層を5% メタノール/クロロホルム(3 x 200 mL)で抽出した。有機層を混合し、乾燥し(硫酸ナトリウム)、減圧下で濃縮して油状物を得た。油状物を、溶出溶媒にTHF：メタノール 9：1を用いるシリカゲルクロマトグラフィーにより精製した。帯緑色固形の粗遊離塩基8.46 gをメタノール100 mLに溶解し、5N塩酸4 mLで処理し、次いで濃縮して乾燥させた。得られる固形物を1:1 クロロホルム：メタノールで洗浄し、濾過して回収し、減圧下で乾燥させた。乾燥後、白色結晶固形の所望の生成物5.5 g (60%)を得た。

融点 183-4°C

^1H NMR (DMSO- d_6) δ 9.93 (bs, 1H), 9.70 (s, 1H), 9.36 (s, 1H), 7.85 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.72 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.43 (d, J = 8.9 Hz, 1H), 7.18 (d, J = 14.2 Hz, 2H), 7.00-6.9 (m, 4H), 6.81 (d, J = 8.40 Hz, 2H), 6.56 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 5.28 (s, 1H), 4.30-4.20 (m, 2H), 3.50-3.30 (m, 4H), 3.00-2.80 (m, 2H), 1.80-1.50 (m, 5H), 1.32 (bs, 1H); MS (FD) m/e 452 (M⁺);

質量分析: $\text{C}_{30}\text{H}_{30}\text{NO}_3$

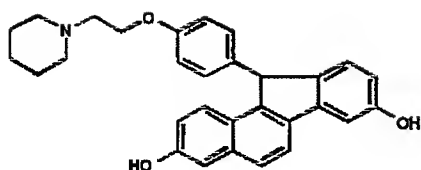
理論値: C, 73.84; H, 6.20; N, 2.87.

実測値: C, 73.46; H, 6.16; N, 2.76.

【0078】実施例 4

3, 8-ジヒドロキシ-11-[4-[2-(1-ピペリジニル)エトキシ]フェニル]-11H-ベンゾ[a]フルオレン 塩酸塩

【化22】



【0079】無水塩化メチレン(300 mL)中の[3, 4-ジヒドロ-6-メトキシ-2-(3-メトキシフェニル)-1-ナフタレニル][4-(2-(1-ピペリジニル)エトキシ)フェニルメタノン]塩酸塩(8.4 g, 16.9 mmol)の溶液を、0℃付近に冷却し、 AlCl_3 (15.4 g, 118 mmol)、次いでエタンチオール(10.4 g, 12.5 mL, 16.9 mmol)で処理した。反応物を冷却したままに保ち、赤色沈殿物が生じる間30分間撹拌した。エタンチオールをさらに加えて(80 mL)沈殿物のいくらかを溶解させ、氷浴温度でさらに2時間撹拌し続けた。反応混合物をTHF 100 mLで処理し、これに多くの今や豊富になった赤色沈殿物を溶解させた。次に、メタノール(200 mL)を加え、赤色沈殿物を完全に溶解させた。反応混合物を濃縮してほぼ乾燥させ、得られる白色懸濁液を過剰の炭酸ナトリウムと氷に注いだ。得られる混合物を温クロロホルム:メタノール 85:15で抽出し、抽出物を蒸発させて乾燥させた。残留物をシリカゲルパッドに注ぎ、シリカゲルカラムの上端におき、これを75:25 酢酸エチル:メタノールで溶出した。適切な分画から、粗生成物4.1 gを得、これについて、再結晶化(メタノール、酢酸エチル、およびクロロホルムの混合物から)により精製を試みた。最終的に、少量の結晶が塩酸塩として単離され、所望の物質0.49 g (6%)を得た。

【0080】試験手順

方法を例示した実施例において、閉経後モデルを用いて循環脂質に対する種々の処理の影響を検討した。75日齢の雌Sprague Dawley ラット(体重の範囲、200~225g)をCharles River Laboratories (Portage, MI)から得た。Charles River Laboratoriesにおいて、動物に対し両側性に卵巣摘出(OVX)またはシャム外科処置を実施し、次いで1週間後に輸送した。到着時に、動物を金属製のつり下げケージに1ケージあたり3~4匹に群分けして収容し、1週間不断給餌(カルシウム含量約0.5%)および給水とした。室温を $22.20 \pm 1.7^\circ\text{C}$ に、最小相対湿度を40%に維持した。室内の光周期を12時間明および12時間暗とした。

【0081】投与管理および組織の回収。1週間の環境順化期間の後(従って、OVX後2週間)、被験化合物の連日投与を開始した。 17α -エチニルエストラジオールまたは被験化合物を、特記しない限り1%カルボキシメチルセルロース中の懸濁液としてかまたは20%シクロデキストリンに溶解して経口投与した。動物に対し4日間毎日投与を行った。投与管理後、動物の体重を測定してケタミン:キシラジン(2:1, V:V)混合物で麻酔し、心

臓穿刺により血液試料を回収した。次に、動物を CO_2 で窒息させて屠殺し、正中線切開により子宮を取り出し、湿子宮重量を測定した。

【0082】コレステロール分析。血液試料を室温で2時間凝固させ、次いで3000rpmで10分間遠心して血清を得た。血清コレステロールはBoehringer Mannheim Diagnostics高性能コレステロールアッセイを用いて測定した。簡単にはコレステロールをコレスタ-4-エン-3-オンおよび過酸化水素で酸化させた。次に、過酸化水素をパーオキシダーゼの存在下でフェノールおよび4-アミノフェナゾンと反応させ、p-キノニイミン色素を生成させ、これを分光光度計を用いて500 nmで計測した。次に、コレステロール濃度を標準曲線に対して計算した。

【0083】子宮好酸球パーオキシダーゼ(EPO)アッセイ。子宮を、酵素分析を行う時まで 4°C で維持した。次に、子宮を0.005% Triton X-100を含む50 mM トリス緩衝液(pH 8.0) 50容量中でホモゲナイズした。トリス緩衝液中の0.01% 過酸化水素および10 mM O-フェニレンジアミン(最終濃度)を加え、吸光度の増加を450 nmで1分間モニターした。子宮中の好酸球の存在は、化合物のエストロゲン様活性を示す。15秒間隔の最大速度を反応曲線の初期、線形部分にわたって測定した。

化合物の供給源: 17α -エチニルエストラジオールはSigma Chemical Co., St. Louis, MOから得た。

【0084】式Iの化合物の血清コレステロールに対する影響とアゴニスト/非アゴニスト活性の測定。下記表1に示すデータは、卵巣摘出ラット、 17α -エチニルエストラジオール(EE_2 ; 経口投与可能な形のエストロゲン)処置ラット、および本発明のある化合物で処置したラット間の比較結果を示している。 EE_2 は0.1 mg/kg/日の経口投与により血清コレステロールの低下をもたらすが、 EE_2 は子宮に対する刺激作用をも示し、 EE_2 処置群の子宮重量は卵巣摘出試験動物の子宮重量より実質的に大きかった。エストロゲンに対するこの子宮の反応は、当該分野でよく知られている。卵巣摘出コントロール動物と比べたとき、本発明の化合物は一般に血清コレステロールを低下させるだけでなく、子宮重量は試験した処方化合物の大多数において最小限の増加ないしわずかな減少を示した。当該分野で知られているエストロゲン様化合物に比べて、子宮重量に有害な影響を及ぼすことなく血清コレステロールを低下させる利点は全くまれであり、望ましいものである。

【0085】下記のデータが示すように、エストロゲンは子宮内への好酸球浸潤を生じる有害反応を評価することによっても評価された。エストラジオールは予期された実質的な好酸球浸潤の増加を生じたが、本発明の化合物は卵巣摘出ラットの間質層中に観察された好酸球数の増加を生じなかった。下記表1および2に示すデータは処置あたりラット5~6匹の反応を表している。

【0086】

【表1】

化合物	用量 mg/kg ^a	実験1		血清 コレステロール (% Dec.) ^d
		子宮 Wt. (% inc.) ^b	子宮 EPO (Vmax) ^c	
EE ₂ ^e	0.1	200.2*	276.5*	98.6*
実施例 3	0.1	-28.4*	9.2	68.9*
	1	-14.5*	13.0	67.0*
	10	-22.2*	8.8	72.1*

【0087】

【表2】

化合物	用量 mg/kg ^a	実験2		血清 コレステロール (% Dec.) ^d
		子宮 Wt. (% inc.) ^b	子宮 EPO (Vmax) ^c	
EE ₂ ^e	0.1	135.0*	250.1*	100*
実施例 3	0.01	57.6*	7.6	24.5
	0.1	3.2*	5.8	74.5*
	1	3.5*	9.0	73.6*

^a mg/kg PO^b 卵巣摘出コントロールに対する子宮重量増加%^c 好酸球パーオキシダーゼ、V_{max}^d 卵巣摘出コントロールに対する血清コレステロールの減少^e 17- α -エチニルエストラジオール

【0088】本発明の化合物の証明された利点に加えて、上記データは明らかに式Iの化合物がエストロゲン模倣物ではないことを示している。さらに、いかなる処置においても有害な毒物学的影響(例えば、生存数)は観察されなかった。

【0089】骨粗鬆症試験手順

以下の一般的製造手順に従って、ラットを35日間毎日処置し(処置群あたりラット6匹)、36日目に二酸化炭素で窒息させて屠殺した。本明細書の記載に従って測定した骨密度の減少が最大となるには35日の期間で十分であった。屠殺時に子宮を取り出し、外部組織が付着していないことを確認し、液状内容物を除去して湿重量を測定し、完全な卵巣摘出術に関連したエストロゲン欠乏を確認した。子宮重量は通常、卵巣摘出術に反応して約75%

減少する。次に、さらに組織学的分析を行うために子宮を10% 中性緩衝ホルマリン中に入れる。右大腿骨を摘出し、遠位骨端線で生じたX-線をデジタル化し、画像分析プログラム(NIH画像)により分析した。これら動物の脛骨の近位の特徴も定量的コンピュータ化トモグラフィによってスキャンされる。上記手順に従って、20% ヒドロキシプロピル β -シクロデキストリン中の本発明の化合物およびエチニルエストラジオール(EE₂)を試験動物に経口投与する。遠位大腿骨骨端線および近位脛骨のデータは完全および卵巣摘出試験動物と比較した式Iの化合物での治療結果であった。結果は下記表3に示す通り、卵巣摘出術に対する防御%で示している。まとめると、試験動物の卵巣摘出術は完全、ビークル処置コントロールに比べて大腿骨密度の有意な低下をもたらす。経口投与したエチニルエストラジオール(EE₂)はこの損失を予防するが、この治療による子宮刺激の危険性が絶えず存在する。

【0090】

【表3】

化合物	用量 mg/kg	体重変化 % dec. vs. OVX	大腿骨	脛骨
			x-線 % prot	HMD % prot
EE ₂	0.1	109.2	32.4	60.9
実施例 3	0.01	36.4	6.4	18
	0.1	68.8	39.9	62.8
	1.0	79.5	30.8	58.3

【0091】MCF-7増殖アッセイ

MCF-7乳癌細胞(ATCC HTB 22)は、10%ウシ胎児血清(FBS)(V/V)、L-グルタミン(2mM)、ビルビン酸ナトリウム(1mM)、HEPES{N-[2-ヒドロキシエチル]ピペラジン-N'-[2-エタンスルホン酸]10mM}、非必須アミノ酸、およびウシインスリン(1ug/mL)を添加したMEM(最小必須培地、無フェノールレッド、Sigma, St. Louis, MO)中で維持された。アッセイの10日前に、MCF-7細胞を、ステロイドの内部貯蔵量を枯渇させるため、10%FBSのかわりに10%デキストランコート木炭で除去した(stripped)ウシ胎児血清を添加した維持培地に移した。MCF-7細胞を、細胞分離培地(10mM HEPESおよび2mM EDTA添加、無Ca⁺⁺/Mg⁺⁺ HBS(無フェノールレッド))を用いて維持フラスコから取り出した。細胞をアッセイ培地で2回洗浄し、80000個/mLに調整した。約100mL(細胞8000個)を平底微小培養ウェル(Costar 3596)に加え、5%CO₂加湿孵卵器中にて37℃で48時間インキュベーションし、移した後の細胞の付着と平衡化を行った。薬剤の連続希釈物またはDMSO(希釈液コントロール)をアッセイ培地中で調製し、50mLをトリプリケートで、次いで50mLのアッセイ培地を微小培養に移し、終量200mLとした。さらに、5%CO₂加湿孵卵器中にて37℃で48時間インキュベーションした後、微小培養をトリチウム化チミジン(1uCi/ウェル)で4時間パルスした。-70℃で24時間凍結して培養を終了させ、次いで融解し、Skatron Semiautomatic Cell Harvesterを用いて微量培養を回収した。Wallace

BetaPlace βカウンターを用いる液体シンチレーションにより試料をカウントした。式Iの化合物は腫瘍細胞増殖の阻害において活性があり、有力であり、例えば、実施例3の化合物のIC₅₀は0.11 nMである。

【0092】DMBA-誘発乳癌阻害

雌Sprague-Dawleyラット(Harlan Industries, Indianapolis, Indianaから購入)にエストロゲン依存性乳癌を生じさせる。約55日齢で、ラットに7,12-ジメチルベンゾ[a]アントラセン(DMBA)20mgを1回経口摂取させる。DMBA投与の約6週後に、乳腺を1週間間隔で触診して腫瘍の出現を観察する。1またはそれ以上の腫瘍が出現したときは、各腫瘍の長径および短径をメートル法の測径器で測定し、測定値を記録し、その動物を試験用を選択した。試験群間に平均サイズの腫瘍が同等に分布するように、処置群とコントロール群に種々のサイズの腫瘍が均一に分布するよう試みた。各試験毎にコントロール群と試験群は動物5〜9匹を含む。式Iの化合物は2%アカシア中の腹腔内注射によるかまたは経口的に投与される。経口投与される化合物は、0.2mLコーン油中に溶解または懸濁させる。アカシアおよびコーン油コントロール処置を含む各処置は各試験動物に1日1回投与される。試験動物の最初の腫瘍の測定および選択後、腫瘍を上記方法により各週測定する。動物の処置および測定を3〜5週間続け、その時点で腫瘍の最終面積を測定する。各化合物およびコントロール処置について、平均腫瘍面積の変化を測定する。

フロントページの続き

(51)Int. Cl.⁶

識別記号

A 6 1 K 31/535
31/55
C 0 7 C 43/13
69/18
69/28
309/65
C 0 7 D 295/08
C 0 7 F 7/18
// C 0 7 C 39/12
C 0 7 D 207/06

A E D
A D F

F I

A 6 1 K 31/535
31/55
C 0 7 C 43/13
69/18
69/28
309/65
C 0 7 D 295/08
C 0 7 F 7/18
C 0 7 C 39/12
C 0 7 D 207/06

A E D
A D F

C

Z

A

(72)発明者 チャールズ・デイビッド・ジョーンズ
アメリカ合衆国46227インディアナ州イン
ディアナポリス、イースト・ブランズウィ
ック・アベニュー223番

(72)発明者 ヘンリー・アールマン・ブライアント
アメリカ合衆国46250インディアナ州イン
ディアナポリス、キャメルバック・ドライ
ブ7840番